Journal of Plant Protection
Vol. 35, No. 1, Spring 2021, P. 57-67

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۱، بهار ۱۴۰۰، ص. ۶۷-۵۷

مقاله پژوهشی

گرده‌شناسی عسل تولیدی زنبور عسل (*Apis mellifera* L.) در استان سمنان

محمد نیکنام[۱]- حسین صادقی نامقی[۲*]- حسن نظریان[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۱۲

چکیده

برای شناسایی منابع شهد و گرده مورد استفاده زنبور عسل در مناطق مختلف استان سمنان در سال ۱۳۹۶، نمونه‌های استاندارد عسل بصورت تصادفی از زنبورداری‌های ۲۵ منطقه مختلف استان جمع‌آوری شد. دانه‌های گرده موجود در نمونه‌های عسل با دانه‌های گرده از گونه‌های گیاهی که در تشکیل عسل نقش دارند از نظر مرفولوژیکی مقایسه شدند. بر اساس تنوع مرفولوژیکی دانه‌های گرده موجود در نمونه‌های عسل تعداد ۵۰۵ نوع دانه گرده متعلق به ۸۳ خانواده گیاهی شناسایی شد. با توجه به تنوع و فراوانی دانه‌های گرده شناسایی شده در نمونه‌های عسل مطالعه شده، مهم‌ترین گونه های گیاهی مورد استفاده زنبور عسل در مناطق مهم زنبورداری استان به ترتیب مربوط به تیره‌های گیاهی کاسنی، بقولات، نعنائیان، رزاسه، چتریان، چلیپائیان، سوسن و آلاله بودند. در این تحقیق با استفاده از هموسایتومتر اقدام به شمارش دانه‌های گرده موجود در نمونه‌های استاندارد ۱۰ گرمی عسل با ۱۰ تکرار شد. از نظر تراکم تعداد دانه گرده در حجم استاندارد عسل مشخص شد که ۴٪ از نمونه‌ها دارای کمتر از ۲۰۰۰۰ دانه گرده در نمونه استاندارد (۱۰ گرم عسل) بوده و در کلاس ۱ (بسیار ضعیف) قرار گرفتند. هیچ نمونه عسلی در کلاس ۲ یا ضعیف (۲۰۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰۰ دانه گرده) قرار نگرفت. ۷۲٪ از نمونه‌ها در کلاس ۳ یا متوسط (۱۰۰۰۰۰ تا ۵۰۰۰۰۰ دانه گرده در نمونه)، ۱۶٪ نمونه‌ها در کلاس ۴ یا خوب (۵۰۰۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰۰۰ دانه گرده) و ۸٪ از نمونه‌ها در کلاس ۵ یا عالی (بیش از ۱۰۰۰۰۰۰ دانه گرده) قرار گرفتند. نتایج نشان داد که زنبور عسل معمولی در شرایط منطقه مورد مطالعه در رفتار چراگری وابستگی به گیاه خاصی ندارد. آنالیز دانه های گرده عسل نشان داد به استثنای چند مورد خاص، منابع مورد چرای زنبورهای عسل کارگر در شرایط منطقه بسته به فصل و شرایط، طیف متنوعی از گیاهان گلدار را در بر می‌گیرد.

واژه‌های کلیدی: دانه گرده، زنبور عسل، عسل، گرده‌شناسی عسل

مقدمه

با افزایش فعالیت زنبورداری، شناسایی منابع اصلی گرده در یک منطقه و ارزش آن‌ها برای کلنی‌های زنبور عسل و تولید گرده اهمیت بیشتری می‌یابد. گرده های جمع‌آوری شده از گل ها توسط زنبورهای عسل کارگر تنها منبع پروتئین طبیعی برای رشد زنبورهای پرستار و نوزادان و فعالیت ملکه در کندو است. همچنین کیفیت ژله رویال به رژیم غذایی زنبورهای پرستار بستگی دارد، که مورد اخیر ممکن است تأثیر مهمی در ریخت‌شناسی، رفتار و فیزیولوژی همه افراد (۲) و همچنین بر کیفیت خدمات گرده‌افشانی داشته باشد (۲۸). از این رو ، گرده گل تأثیر به‌سزایی بر سلامت کلنی دارد. تحقیقات نشان داده است که کیفیت گرده، از نظر نوع و کیفیت اسیدهای آمینه و مقدار پروتئین کل، با توجه به منشأ گل متفاوت است. لذا تنوع پالینولوژیکی گرده‌ها معیار مناسبی برای کیفیت محیط زندگی زنبورهای عسل است. شناسایی و کمی‌سازی دانه های گرده در نمونه های عسل یکی از بهترین روش‌های تعیین دامنه انواع گل مورد استفاده در تولید عسل است، که برچسب‌گذاری صحیح بر اساس منابع مورد استفاده‌ی زنبورهای کارگر را امکان پذیر می‌کند. همچنین مطالعات تحلیلی طولانی مدت روی دانه‌های گرده موجود در عسل گرده می‌تواند روند برخی تغییرات ناشی از دخالت‌ها و فعالیت‌های انسان را در محیط نشان دهد.

زنبورهای عسل کارگر (*Apis mellifera* L.) برای جمع‌آوری شهد و گرده بسیاری از گل‌ها را مورد بازدید قرار می‌دهند (۱۳). اگرچه

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی دکتری حشره‌شناسی و استاد گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: sadeghin@um.ac.ir)
۳- دانشیار گیاه‌شناسی، مرکز آموزش عالی امام خمینی (ره)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

DOI: 10.22067/JPP.2021.67070.0

زنبورهای چراگر ممکن است در یک زمان با گل‌های بالقوه زیادی روبرو شوند، اما فقط برخی از آن‌ها را انتخاب می‌کنند. لذا به نظر می رسد که این زنبورها نوعی رفتار ترجیحی را در مورد گل‌هایی که بازدید می‌کنند از خود نشان می‌دهند. چنین رفتار انتخابی طبق تئوری چراگری بهینه (۳۰) قابل پیش‌بینی است و بیانگر این واقعیت است که زنبورها ارزش غذایی هر گل را نسبت به هزینه بهره‌برداری از آن گل برآورد می‌کنند. مطالعات متعددی ارتباط بین انتخاب گل و محتوای شهد در بین زنبورها را بررسی کرده‌اند (۱، ۲، ۵ و ۲۲). در مطالعات دیگر و با استفاده از گل‌های مصنوعی، روابط نزدیکی بین بازدید زنبورها از گل‌های مدل و برداشت شهد نشان داده شده است (۵ و ۸). دانه‌های گرده موجود در عسل به عنوان شواهدی در نظر گرفته می‌شود که زنبورهای کارگر از گیاهان گلدار بازدید کرده‌اند. لذا تجزیه و تحلیل گرده ابزاری قدرتمند برای تعیین گیاهانی است که زنبورها از آن‌ها بازدید می‌کنند (۴ و ۲۳). زنبورها با توجه به پوشش گیاهی اطراف، در دسترس بودن منابع، فصلی بودن، برهم‌کنش با سایر زنبورها و نیازهای کندو منابع گیاهی را انتخاب می‌کنند (۲۶).

اطلاعات مربوط به منابع گل مورد استفاده زنبورهای عسل به زنبورداران این امکان را می‌دهد که کندوها را در نزدیک‌ترین، مناسب‌ترین و غنی‌ترین محل‌های دارای منابع شهد و گرده قرار دهند. همچنین چنین اطلاعاتی می‌تواند به بهره‌برداری منطقی و توسعه برنامه‌هایی برای حفاظت از زنبورهای عسل کمک کند. علاوه بر این، ترکیب دانه‌های گرده در عسل می‌تواند به عنوان شاخصی برای رفتار تغذیه ای زنبورهای عسل روی گونه های گیاهان در یک منطقه و دوره مشخص استفاده شود (۱۰).

اگرچه اطلاعات مربوط به ترکیب قند، هدایت الکتریکی و تجزیه و تحلیل اسیدهای آمینه موجود در عسل ممکن است به تعیین منشأ جغرافیایی عسل کمک کند، اما طبق برخی مطالعات روش مطمئنی نیست (۱۴ و ۱۵). مرور منابع علمی نشان می دهد که هم‌چنان متداول‌ترین روش برای تعیین منشأ گیاهی عسل، تجزیه و تحلیل دانه‌های گرده موجود در عسل است (۶). گرده‌شناسی عسل (Melissopalinology) شاخه‌ای از گرده‌شناسی است که با تحقیقات میکروسکوپی عسل سر وکار دارد. مطالعات گرده‌شناسی عسل در صنعت زنبورداری اهمیت کاربردی دارد (۶ و ۹). تجزیه و تحلیل دانه‌های گرده موجود در عسل و تجزیه و تحلیل حسی، فیزیکی و شیمیایی عسل برای تعیین منشأ جغرافیایی و گیاه‌شناسی عسل مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳۲). به‌علاوه این علم اطلاعات اساسی در مورد جنبه‌های بهداشتی تولید عسل نظیر آلودگی آن با مواد معدنی، گرد و غبار، دوده، ذرات نشاسته (۱۶)، فیلتراسیون، تخمیر (۲۵) و تقلب در عسل (۳۱) فراهم می‌کند. روش گرده‌شناسی عسل توسط کمیسیون جهانی گیاه‌شناسی زنبور عسل در سال ۱۹۷۸ مورد تائید قرار گرفت (۱۶) و پس از آن به طور گسترده‌ای در آزمایشگاه‌های کشورهای اروپایی برای تجزیه و تحلیل عسل مورد استفاده قرار گرفته است.

تا کنون منابع گرده و شهد گیاهان مورد استفاده زنبورهای عسل در برخی مناطق ایران بررسی شده است (۱۷، ۱۸، ۲۴ و ۲۷). به‌عنوان مثال، صانعی شریعت پناهی و سعید آبادی (۲۷) برای اولین بار گرده های موجود در عسل را در کرج با روش گرده‌شناختی مشخص نمودند. منافی (۱۸) گرده های موجود در عسل‌های آذربایجان را با استفاده از روش‌های معمول آنالیز و ارزشیابی دانه‌های گرده در منطقه خوی، اسکو و کلیبر مورد بررسی قرار داد و مشخص نمود که میزان گرده موجود در عسل‌های خوی متعلق به گیاهان تیره گل مینا Compositae به ویژه گونه آفتابگردان، در عسل‌های اسکو از تیره نعناع Labiatae و در عسل کلیبر از تیره پروانه‌آسا Fabaceae و به ترتیب ۸۰٪، ۸۰ ٪ و۴۴ ٪ می باشد. معماریانی (۱۷) ده نمونه از عسل‌های جمع‌آوری شده از نقاط مختلف استان خراسان را تهیه نمود و پس از استخراج و تیمار گرده‌ها با بررسی خصوصیات مورفولوژیکی عسل‌ها نشان داد که در تعداد زیادی از نمونه‌ها گرده گیاهان خانواده Compositae (با ۳۶/۴ تا ۶۱/۴ درصد) نسبت قابل توجهی از ترکیب گرده‌های عسل را تشکیل می‌دهند. وی در مجموع ۴۳ تیپ گرده متعلق به ۲۸ تیره گیاهی را شناسایی نمود. رزاقی کامرودی و همکاران (۲۴) در شناسایی گرده‌های موجود در عسل‌های حوزه آبخیز نور رود مازندران گرده‌های ۲۵ نمونه عسل را استخراج و به روش استولیز مورد مطالعه قرار دادند و در بررسی مرفولوژیکی ۵۲ تیپ گرده متعلق به ۱۸تیره گیاهی را در نمونه‌ها شناسایی کردند. بطور کلی بیشترین گرده‌های موجود در نمونه عسل‌ها مربوط به تیره‌های Labiatae (۲۳/۱درصد)، Leguminosae (۲۱/۲ درصد)، Rosaceae (۱۵/۴ درصد) و (Compositae (۱۳/۵ درصد) بود و سایر تیره‌ها ۲۶/۸ درصد را شامل شدند.

علی‌رغم اهمیت و گسترش روزافزون زنبورداری در استان سمنان، تاکنون اطلاعاتی در مورد وضعیت منابع شهد و گرده مورد استفاده زنبورهای عسل در مناطق زنبورداری استان منتشر نشده است. تحقیق حاضر با هدف بررسی تنوع و فراوانی دانه‌های گرده در نمونه‌های عسل از مناطق عمده زنبورداری استان سمنان انجام شد، تا علاوه بر تعیین رجحان چراگری زنبورهای عسل کارگر در منطقه مورد مطالعه، تقویم گلدهی گیاهان منطقه تهیه شود و برای راهنمایی زنبورداران و کشاورزان، به‌منظور آگاهی از دوره شکوفایی گیاهان مورد علاقه زنبور عسل در شرایط منطقه، مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

موقعیت جغرافیایی مناطق مورد مطالعه

این تحقیق در سال ۱۳۹۶ در مناطق مختلف استان سمنان انجام

شد (جدول ۱). استان سمنان بـا وسـعت ۹۷۴۹۱ کیلـومتر مربـع ۵/۸ درصد از مساحت کشور را به خود اختصاص داده است. ایـن اسـتان از ۳۴ درجه و ۱۳ دقیقه تا ۳۷ درجه و ۲۰ دقیقه عـرض شـمالی و از ۵۱ درجه و ۵۱ دقیقه تـا ۵۷ درجـه و ۳ دقیقـه طـول شـرقی مـی‌باشـد. بلندترین نقطهٔ استان به نام کوه شاهوار به ارتفاع ۳۹۴۵متر می‌رسد. با مرکزیت شهرسـتان سـمنان از جانـب شـمال بـه اسـتان مازنـدران و گلستان، از جنوب به استان اصفهان، از مشرق به استان خراسـان و از مغرب به استان تهران محدود است. در ایـن مطالعـه بـرای تجزیـه و تحلیل کمی دانه‌هـای گـرده، مقـدار یـک کیلـوگرم عسـل در اواخـر تابستان ۱۳۹۶ (زمان عسل گیری زنبـورداران) از ۲۵ زنبـوردار اسـتان سمنان تهیه و مختصات جغرافیایی محل نگه‌داری کندوها با اسـتفاده از دستگاه GPS ثبت شد (جدول ۱).

جدول ۱- مشخصات جغرافیایی مناطق مورد مطالعه

Table 1- Geographical characteristics of the study areas

ردیف No	نام منطقه Location	ارتفاع از سطح دریا (متر) Above sea level (m)	عرض جغرافیایی Latitude	طول جغرافیایی Longitude
1*	ابرسج ۱	1761	36º 34' 35.18 "	54º 54' 59.148 "
2	ابرسج ۲	1729	36º 34' 44.23 "	54º 55 12.52 "
3	آب اوستا	2076	36 º 34 ' 08.98 "	54 º 52 ' 06.58 "
4	تپال شاهرود	1413	36 º 24 ' 41.06 "	54 º 55 ' 52.82 "
5	قطری	1792	36 º 4 '4 39.90 "	55 º 08' 41.58 "
6	میامی	1047	36 º 25 ' 33.49 "	55 º 43' 08.45 "
7	تاش	2328	36 º 34' 08.33 "	54 º 41' 04.81 "
8	سیاهکوه	1760	36 º 34' 45.40 "	55 º 11' 11.90 "
9	ابر	1812	36 º 42' 54.01 "	55 º 03' 43.30 "
10	میقان	1845	36 º 38' 05.26 "	54 º 57' 59.16 "
11	چهار طاق پرو	1431	36 º 36' 09.05 "	55 º 06' 13.27 "
12	شاهکوه پایین	2525	36 º 33' 39.77 "	54 º 26' 11.506 "
13	شاهکوه بالا	2376	36 º 35' 00.54 "	54 º 39' 21.60 "
14	آبشار مجن	2358	36 º 28' 25.47 "	54 º 33' 31.52 "
15	بازار محلی شاهرود	----	----	------
16	مهماندویه ۱	2247	36 º 25' 16.37 "	54 º 34' 03.27 "
17	مهماندویه ۲	2004	36 º 24' 03.23 "	54 º 32'59.46 "
18	دیباج	1855	36 º 25'51.39 "	54 º 14' 2.60 "
19	دامغان	1122	36 º 09' 33.62 "	54 º 23' 08.19 "
20	چمن ساور	1601	36 º 34'59.55 "	54 º 12' 17.51 "
21	شهمیرزاد	2149	35 º 46' 47.34 "	53 º 18' 45.25 "
22	فولاد محله	1860	36 º 03' 17.26 "	53 º 42' 52.95 "
23	رامه گرمسار	2081	35 º 28'36.44 "	52 º 43' 30.02 "
24	گرمسار	880	35 º 14' 03.03 "	52 º 21' 30.15 "
25	نمونه تجاری	-----	------	----

*-1, Abrsaj1; 2, Abrsaj2; 3, Abosta; 4, Tepal Shahrood; 5, Qatari; 6, Miamay; 7, Tash; 8, Siah kooh; 9, Abr; 10, Mighan; 11, Chartagh pro; 12, Shahkooh paeen; 13, Shahkooh bala; 14, Mojen; 15,Shahrood local bazar; 16, Mehmandoyeh1; 17, Mehmandoyeh2; 18, Dibaj; 19, Damaghan; 20, Chamansaw; 21, Shahmirzad; 22, Folad mahalle; 23,Rameh Garmsar; 24, Garmsar; 25, commercial sample.

از هر نمونه ۱۰ گرم عسـل در یـک اسـتوانه مـدرج طبـق روش فرگرون (۳۲) توزین و با اضافه کردن آب مقطر استریل به حجـم ۲۰ سانتی‌متر مکعب رسانده شد. سپس محلول عسل به دست آمده به دو قسمت ۱۰ سانتی‌متر مکعبی در دو لوله سانتریفیوژ مدرج تقسیم شـد. پس از سانتریفیوژ لوله‌ها با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه بـه مـدت ۱۰ دقیقه، مقدار ۹ سانتی‌متر مکعب مایع رویی از هر لولـه برداشـته و دور ریخته شد. سپس به مقدار ۱ سانتی‌متر مکعب باقیمانده از هر لولـه، ۵ سانتی‌متر مکعب آب مقطر استریل اضافه شد و لوله‌هـا تـا بـه دسـت آمدن یک مخلوط یکنواخت به هم زده شد. نهایتا با افزودن آب مقطر استریل حجم نمونه هر لوله به ۳۰ سانتی‌متر مکعب رسید. محتوی هر

دو لوله به مدت ۱۰ دقیقه با ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژگردید. با یک پیپت خودکار مایع فوقانی هر یک از لوله‌ها دور ریخته شد. سپس از ۱ سانتی‌متر مکعب باقیمانده محلول عسل، با پیپت خودکار ۱۰ میلی‌متر مکعب (میکرولیتر) نمونه گرفته شد. پس از قرار دادن لامل شیشه‌ای (به ابعاد ۲۴ در ۳۲ میلی‌متر و ضخامت ۰٫۱۳تا ۰٫۱۷ میلی متر) دو قطره از رسوبات محلول گرده روی هر شبکه شمارشگر هموسایتومتر قرار داده شد (شکل ۲). نهایتا شمارش دانه‌های گرده با استفاده از میکروسکوپ نوری و با بزرگنمایی ۱۰۰ انجام شد. این مراحل برای هر نمونه عسل ده بار تکرار شد.

شمارش سلول‌ها به صورت کلی نیازمند روش عمومی استفاده از اتاقک‌های شمارش‌کننده به نام هموسایتومترمی‌باشد. این ابزار به وسیله یک آناتومیست فرانسوی در قرن ۱۹، به نام Louis-Charles Malassez برای شمارش سلول‌های خون ابداع شد (۱۲). این شبکه قطر مشخصی دارد و ناحیه پوشیده شده به وسیله خطوط مشخص است. در نتیجه شمارش تعداد سلول‌ها در حجم مشخصی از محلول امکان‌پذیر می‌شود.

قرار دادن نمونه بر روی هموسایتومتر

یک هموسایتومتر از یک لام میکروسکوپی نازک شیشه‌ای با شبکه‌ای از مربع‌های هاشور خورده در وسط تشکیل شده است. پیش از شروع کار اطمینان حاصل شد که هر دو سطح هموسایتومتر و لاملی که روی آن قرار می‌گیرند با استفاده از یک کاغذ تمیز کننده لنز کاملا عاری از هر نوع غبار و ذره‌ای باشند. لامل استفاده شده بر روی هموسایتومتر ضخیم‌تر از لامل‌های معمول به کار رفته در سنجش‌های میکروسکوپی است، تا بتوانند بر کشش سطحی یک قطره مایع غلبه کنند. پیش از قرار دادن محلول گرده، لامل را بر روی سطح شمارش کننده قرار داده، سپس نوک سمپلر حاوی نمونه را همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده در یکی از چاهک‌های V شکل قرار داده و نمونه تخلیه می‌شد. بایستی دقت شود که به میزان کافی محلول نمونه در محل مورد نظر قرار گیرد تا سطح شیشه‌ای کاملا پوشیده شود که این مقدار تقریبا ۱۰ میکرولیتر است. دقت می‌شد که بیش از مقدار لازم نمونه بر روی لام قرار نگیرد. با توجه به این موضوع، دو نمونه را بر روی یک هموسایتومتر قرار داده به صورتی که هر نمونه بر روی یک ناحیه مشبک قرار می‌گرفت. در استفاده از هموسایتومتری که چاهک نداشت دو قطره از محلول حاوی گرده روی ناحیه مشبک قرار داده به آرامی لامل را به صورت اریب بر روی قطره محلول قرار داده تا از تشکیل حباب و رانده شدن گرده‌ها به اطراف جلوگیری شود. سپس هموسایتومتر دارای نمونه بر روی صفحه میکروسکوپ قرار داده می‌شد و بر روی بخش مشبک با قدرت بزرگنمایی کم (۱۰۰) تمرکز و کار شمارش انجام می‌شد. جهت شناسایی گونه گیاهی دانه گرده از بزرگنمایی بالا (۴۰۰) استفاده گردید.

شمارش گرده‌ها در هموسایتومتر

یک شبکه کامل در هموسایتومتر شامل ۹ مربع است که هر کدام ۱ میلی‌متر مربع می‌باشند (شکل ۱). ناحیه شمارش مرکزی هموسایتومتر (شکل ۱-B) شامل ۲۵ مربع بزرگ بوده و هر مربع بزرگ دارای ۱۶ مربع کوچک‌تر است. در زمان شمارش، تنها گرده‌هایی که روی خطوط دو لامل قرار گرفته و روی مربع‌های بزرگ بودند شمارش می‌شد تا از شمارش دوباره سلول‌ها اجتناب شود (شکل ۱-G). محلول‌ها تا حدی رقیق می‌شد تا سلول‌ها یا ذراتی که شمارش می‌شدند بر روی هم قرار نگیرند و به صورت یکسانی پخش شده باشند.

طبقه‌بندی نمونه‌های عسل با استفاده از روش لیووکس و همکاران (۱۶) صورت گرفت. طبقه‌بندی فراوانی دانه‌های گرده در نمونه استاندارد عسل با استفاده از روش جونز و برایانت (۱۲) جهت مشخص کردن عسل تک گل صورت گرفت (فراوانی گرده‌ی خاص بالای ۵۰ درصد کل دانه‌های گرده شمارش شده در نمونه استاندارد در کلاس ۱ قرار گرفته و عسل به عنوان تک گل قلمداد می‌شود. کلاس ۲، شرایطی که تعداد گرده گونه خاص بین ۲۰ تا ۵۰ درصد کل دانه‌های گرده را دارا می‌باشد. درکلاس ۳ تعداد گرده‌ی خاص بین ۱۰-۲۰ درصد کل می‌باشد و کلاس ۴ فراوانی دانه‌های گرده هیچ یک از گرده‌های موجود در نمونه استاندرد عسل به ۱۰ درصد نمی‌رسد).

تهیه پرپاراسیون

اسلاید دانه‌های گرده براساس عناصر میکروسکوپی موجود در عسل پس از انجام سانتریفیوژ و جداسازی رسوب گرده با استفاده از روش معمول (۱۸) و یا در صورت نیاز به روش استولیز ارتمن (۸) تهیه شد.

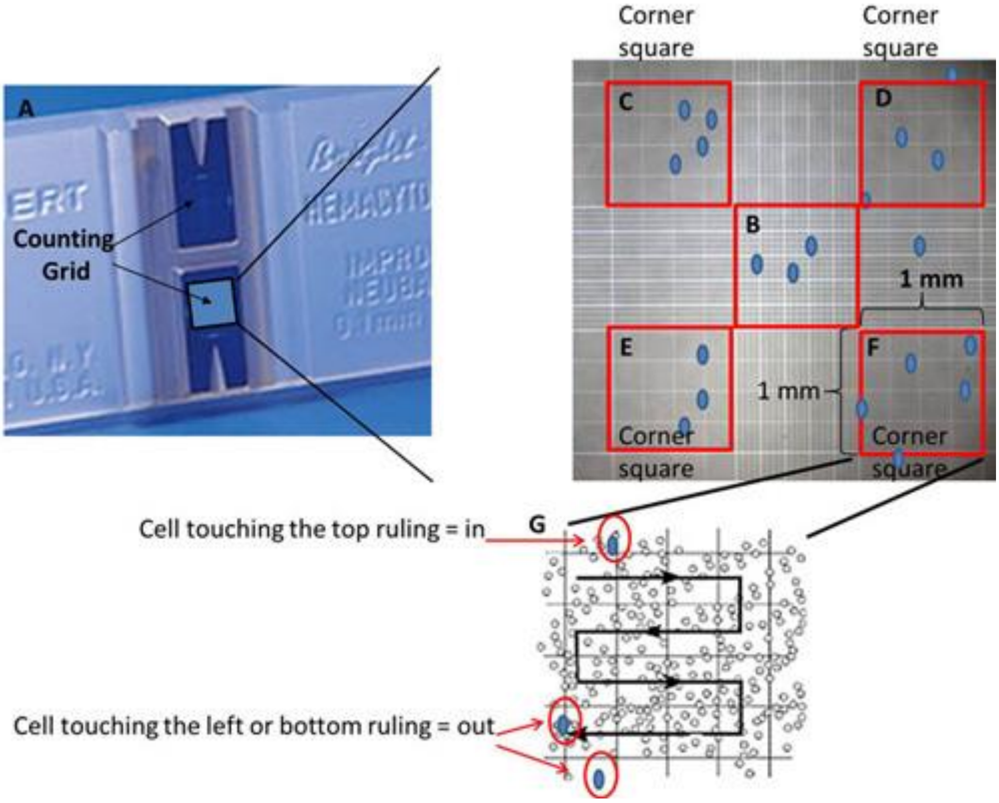
تجزیه و تحلیل آماری

تحلیل آماری داده‌ها با استفاده ازنرم افزار آماری SPSS version 16، مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و ترسیم نمودارها با Sigma Plot 12 انجام گرفت.

نتایج و بحث

دراین تحقیق ۵۰۵ نوع دانه گرده گیاهی در نمونه‌های عسل جمع‌آوری شده از مناطق مورد مطالعه شناسایی شد، که متعلق به ۸۳ تیره گیاهی بودند. از این تعداد، دانه گرده‌ی ۴۷۴ گونه گیاهی در

عسل مناطق ابرسج، ابر، شاهکوه سفلی، بسطام، دیباج دامغان و رامه گرمسار و ۳۱ گونه از عسل مناطق دیگر استان و از عسل تولیدی زنبوردارانی که به استان سمنان کوچ می‌نمایند، شناسایی شد. بر اساس مقایسه میانگین‌های تعداد دانه گرده در نمونه‌های استاندارد (جدول ۲)، بیشترین تعداد دانه گرده در مناطق قطری و فولاد محله (به ترتیب با میانگین ۱/۱۷۴/۰۰۰ و ۱/۰۶۹/۰۰۰ عدد) و کمترین تعداد دانه گرده در نمونه های عسل تجاری و منطقه ابرسج ۲ به ترتیب با میانگین (۱۷/۰۰۰ و ۱۴۰/۰۰۰ عدد) مشاهده گردید (شکل ۳).



شکل ۱- شمارش تعداد دانه گرده به روش Louis-Charles Malassez
Figur 1- Counting pollen by Louis-Charles Malassez method

تعداد گرده در هر نمونه به وسیله فرمول زیر محاسبه شد:

Total cells/ml = total cells counted × (dilution factor / # of square) × 10000 cells/ ml

Dilution factor= میزان رقیق شدگی   # of squares = تعداد مربع ها

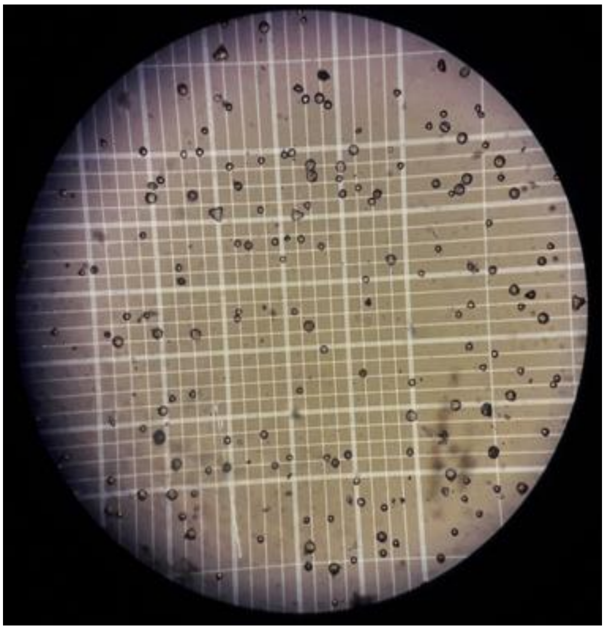
با توجه به تعداد و تنوع پوشش گیاهی که در مناطق قطری و فولاد محله وجود دارد، وجود این میزان دانه گرده قابل توجیه است. همچنین نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها و همچنین جدول طبقه‌بندی دانه‌های گرده (جدول ۳) نشان داد که ۷۲ درصد از مناطق مورد مطالعه (۱۸ منطقه) از نظر تعداد دانه گرده در ده گرم عسل در کلاس ۳ (۱۰۰۰۰۰ تا ۵۰۰۰۰۰ دانه در نمونه استاندارد)، ۱۶ درصد (۴ منطقه) در کلاس ۴ (۵۰۰۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰۰۰ دانه گرده)، ۸ درصد (۲ منطقه) در کلاس ۵ (بالاتر از ۱۰۰۰۰۰۰) و ۴ درصد (۱ منطقه) در کلاس ۱ (کمتر از ۲۰۰۰۰) قرار گرفتند. در این مطالعه هیچ نمونه‌ای درکلاس ۲ قرار نگرفت. نتایج حاصل از شناسایی دانه‌های گرده و فراوانی آن‌ها در نمونه‌های عسل مناطق مختلف استان سمنان نشان داد که مهم‌ترین گونه‌های گیاهی مورد استفاده زنبورهای عسل چراگر به ترتیب مربوط به تیره‌های گیاهی کاسنی، بقولات، نعناعیان، رزاسه، چتریان، چلیپاییان، سوسن و آلاله می‌باشند. گیاهان متعلق به تیره‌های گیاهی ذکر شده در بسیاری از نقاط دیگر کشور نیز مورد علاقه زنبور عسل بوده و نتایج چندین تحقیق انجام شده (۱۷، ۱۸، ۲۴ و ۲۷) موید نتایج حاضر می‌باشد. با توجه به شرایط آب‌وهوایی، تنوع گیاهی در مناطق مختلف استان سمنان نسبتا زیاد است. احتمالا

به دلیل همین تنوع بالای پوشش گیاهی منطقه است که به‌جز موارد خاص اکثر عسل‌های تولیدی استان دارای تنوعی از دانه‌های گرده بوده و لذا عسل تک گل یا عسلی که بیش از ۵۰ درصد دانه‌های گرده آن در یک نمونه استاندارد متعلق به یک نوع گل باشد اندک است. البته در بازه‌های زمانی و مناطق خاص وجود عسل تک گل در شرایط منطقه دور از انتظار نیست. چنان‌که در مورد مزارع یک‌دست یونجه در دشت میامی، یا مزارع آفتابگردان دیم در ماه‌های مرداد و شهریور در منطقه کالپوش و خارشتر در ماه‌های تیر و مرداد در دشت ده ملا و کلزا در ماه‌های اردیبهشت و خرداد در دشت میامی و زردآلو در دشت بسطام چنین شرایطی وجود دارد. نتایج حاصله از این تحقیق نشان می‌دهد که گستردگی و تنوع گیاهان در ترکیب طیف عسل هر منطقه از اهمیت خاصی بر خوردار است. بطوری‌که هر قدر میزان تراکم یک گونه گیاهی و سطح انتشار آن گسترده‌تر باشد، به مقدار چشمگیرتری مورد استفاده زنبور عسل قرار می‌گیرد. اهمیت این نتایج به اثبات پیچیدگی و غیرهمگون بودن پدیده‌های زیست محیطی و اکولوژیکی درفرآیند تغذیه و چراگری زنبورها کمک می‌کند. در استان سمنان این امر نشان می‌دهد که ارزش عسل‌زا بودن گیاهان با توجه به ترکیب پوشش گیاهی، گستردگی و تراکم از یک منطقه به منطقه دیگر متفاوت است. طبق جدول ۱ عسل‌هایی که در کلاس عالی و خوب قرار دارند، از نظر شرایط آب‌وهوایی و پوشش جنگلی و مرتعی بی‌نظیر هستند و باید در حفظ پوشش گیاهی این مناطق تلاش نمود.

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که عسل مورد مطالعه بیشتر مخلوط است و حاوی گرده چندین گونه گیاه گل‌دار است. عدم وجود غالبیت بیش از ۵۰ درصدی دانه‌ی گرده خاص بیانگر تنوع منابع شهد و گرده برای زنبورهای عسل منطقه می باشد، که می‌تواند تنوع زیادی برای خصوصیات عسل ایجاد کند. به طور کلی رژیم غذایی چند گل برای زنبور عسل بهتر از رژیم تک گل تلقی می‌شود (۱). در اولی خطر کمبود اسیدهای آمینه ضروری کم‌تر است و در اثر وجود گرده‌های مناسب اثر گرده‌های سمی یا زیر بهینه متعادل می‌شود (۸). همچنین رژیم غذایی گرده مخلوط تأثیر مثبتی بر توانایی ایمنی کلنی دارد (۱).

نتیجه‌گیری

تجزیه و تحلیل گرده نمونه های عسل طیف گسترده‌ای از منابع گیاهی را نشان داد. نتایج نشان داد که انواع گرده گیاهان خانواده‌های کاسنی، بقولات، نعناعیان، رزاسه، چتریان، چلیپاییان، سوسن و آلاله بیشترین فراوانی را در بین نمونه‌ها دارند. تحقیق حاضر مطالعات ملیسوپالینولوژی قبلی از سایر استان‌های ایران را تکمیل می‌کند و اطلاعات اضافی و جدیدی در مورد منابع گیاهی منطقه‌ای از گرده موجود در عسل می‌دهد. در این مطالعه تمام نمونه‌های عسل به طور مستقیم از زنبورداران محلی به دست آمد و تجزیه و تحلیل ملیسیوپالینولوژی با مشاهدات مستقیم رفتار جستجوی زنبورهای عسل کارگر تکمیل شد. لذا منشأ گرده موجود در عسل با استفاده از محل کندو، فصل و منبع گل موجود تعیین شد. اگرچه مطالعات بیشتر برای آگاهی کامل از رفتار ترجیحی زنبورهای عسل چراگر و گرده شناختی عسل تولیدی منطقه مورد نیاز است.



شکل ۲- نمونه‌های دانه گرده در عسل منطقه فولاد محله

Figure 2- Samples of pollen from honey of Folad Mahalle

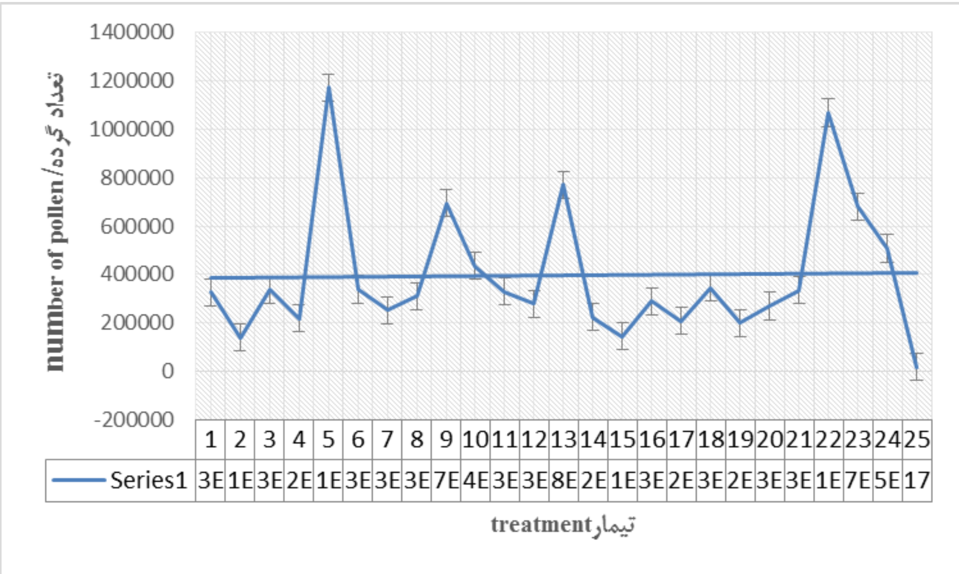
جدول ۲- میانگین تعداد دانه گرده درنمونه عسل از مناطق مختلف استان سمنان

Table 2- Average number of pollen grains in honey sample from different regions of Semnan province

تکرار Replication / تیمار Treatment*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	میانگین Mean** (×10⁴)
1	26	30	20	22	48	46	36	28	32	38	32.6
2	18	10	16	18	10	14	12	15	16	11	14
3	32	26	37	31	42	20	38	54	26	32	33.8
4	22	20	22	24	32	12	24	28	20	14	21.8
5	134	98	110	144	96	124	80	132	106	148	117.4١
6	24	34	42	46	38	28	32	28	44	23	33.9
7	28	22	26	22	26	25	32	24	28	20	25.3
8	32	32	38	28	37	26	34	20	36	28	31.1
9	60	51	61	57	43	53	54	104	116	96	69.5
10	22	40	44	24	16	50	64	52	70	54	43.6
11	25	48	46	42	30	24	26	32	32	24	32.9
12	32	38	26	40	26	22	18	24	26	28	28
13	84	44	102	54	60	83	120	73	48	104	77.2
14	18	24	19	18	28	26	30	21	23	17	22.4
15	22	6	10	7	19	24	12	16	16	13	14.5
16	32	28	24	24	14	20	40	32	42	33	28.9
17	30	12	20	21	12	26	22	24	23	18	20.8
18	42	44	32	24	33	32	26	34	38	41	34.6
19	23	26	16	24	23	18	16	12	13	28	19.9
20	20	34	16	32	18	17	40	37	23	33	27
21	26	38	58	24	30	22	26	41	25	44	33.4
22	120	84	90	112	116	86	140	97	110	114	106.9
23	62	40	76	49	71	88	64	74	62	96	68.2
24	36	16	34	35	37	76	50	98	78	48	50.8
25	0	2	2	2	2	1	0	1	3	4	1.7

*- 1, Abrsaj1; 2, Abrsaj2; 3, Abosta; 4, Tepal Shahrood; 5, Qatari; 6, Miamay; 7, Tash; 8, Siah kooh; 9, Abr; 10, Mighan; 11, Chartagh pro; 12, Shahkooh paeen; 13, Shahkooh bala; 14, Mojen; 15, local bazar; 16, Mehmandoyeh1; 17, Mehmandoyeh2; 18, Dibaj; 19, Damaghan; 20, Chamansaw; 21, Shahmirzad; 22, Folad mahalle; 23,Rameh Garmsar; 24, Garmsar; 25, commercial sample.

**- Mean= 399000, STDEV= 279748, C.V= 0.70



شکل ۳- فراوانی میانگین تعداد گرده در نمونه‌های استاندارد مناطق مختلف مورد مطالعه در استان سمنان در سال ۱۳۹۶

Figure 3- Abundance of the average number of pollens in different standard samples from different parts of study area in Semnan province of Iran in 2017

جدول ۳- طبقه‌بندی نمونه‌های عسل (روش لیووکس و همکاران، ۱۹۷۸)
Table 3- Classification of honey samples (following Louveaux et al. 1978)

تعداد دانه گرده در ۱۰گرم عسل **Class of honey samples (No. of pollen in 10 g. of honey)**	نمونه‌ها **Samples**	درصد نمونه‌های عسل در هر طبقه **Percentage samples in each class**
class1: <20000	25	4%
class2: 20000 – 100000	0	0%
class 3: 100000- 500000	1، 2، 3، 4، 6، 7، 8، 10، 11، 12، 14، 15، 16، 17، 18، 19، 20 و 21.	72%
class4: 500000-1000000	9،13، 23، 24	16%
class5: > 1000000	22 & 5	8%
Total	25	100

این تحقیق نشان داد که تعداد مناسبی از گونه‌های گیاهی مولد شهد و گرده در استان سمنان وجود دارد. بیشتر این گیاهان مورد علاقه زنبور عسل بوده و از جذابیت نسبتا مناسبی برخوردار هستند. دانش کافی از وجود منابع شهد و گرده در هر منطقه می‌تواند به زنبور داران کمک کند تا ضمن حفاظت از پوشش گیاهی، زمان کوچ دادن زنبورها به مناطق مختلف را برای تغذیه و پرورش زنبور عسل مدیریت کنند.

سپاسگزاری

این مقاله بخشی از نتایج رساله دکتری نویسنده اول است که در پردیس بین‌الملل دانشگاه فردوسی انجام گرفته است. بدین‌وسیله از کلیه عزیزانی که نگارندگان را در پروسه نمونه برداری‌ها و کارهای آزمایشگاهی یاری نمودند قدردانی می‌گردد. از داورهای مقاله که با پیشنهاداتشان موجب ارتقاء کیفی مقاله شدند تشکر می‌گردد.

منابع

1. Alaux C., Ducloz F., Crauser D., and Le Conte Y. 2010. Diet effects on honey bee immunocompetence. Biology Letters 6(4): 562–565.
2. Brodschneider R., and Crailsheim K. 2010. Nutrition and health in honey bees. Apidologie 41: 278-294. DOI:10.1051/apido/2010012.
3. Carter R., and Dill L. 1990. Why are bumble bees risk-sensitive foragers? Behavioral Ecology and Sociobiology 26: 121–127.
4. Çelemli Ö.G., Özenirler Ç., Bayram N.E., Zare G., and Sorkun K. 2018. Melissopalynological analysis for geographical marking of Kars honey. Kafkas Universitesi Veteriner. Fakultesi Dergisi Journal 24(1): 53-59.
5. Corbet S.A., Williams I.H. and Osborne J.L. 1991. Bees and the Pollination of Crops and Wild Flowers in the European Community. Bee World 72(2): 47-59.
6. Dinkov D. 2015. Quantitative melissopalynological analysis of bee honey using a Bürker chamber. International Food Research Journal 22(4): 1538-1543.
7. Eckhardt M., Haider M., Dorn S., and Müller A. 2014. Pollen mixing in pollen generalist solitary bees: a possible strategy to complement or mitigate unfavourable pollen properties? Journal of Animal Ecology 83: 588–597. DOI:10.1111/1365-2656.12168.
8. Erdtman G. 1960. The acetolysis method: A revised description. Svensk BotaniskTidskrift 54: 556-564.
9. Harder L.D., and Real L.A. 1987. Why are bumble bees risk averse? Ecology 68(4):1104-1108.
10. Hassanien M.M., El-Sherif M.E.M., Salem A.A.A., and Ali M.A.M. 2018. Quantitative pollen analysis of bee honey at certain apiaries in qalyubia governorate and available honey in local market. Egypt Arab University, Ain Shams University, Cairo Journal of Agricultural Science 26(1): 303-311.
11. Human H., Brodschneider R., Dietemann V., Dively G., Ellis J., Forsgren E., Fries I., Hatjina F., Hu F-L., Jaffè R., Jensen A. B., Köhler A., Magyar J., Özkýrým A., Pirk C.W. W., Rose R., Strauss U., Tanner G., Tarpy D.R., van der Steen J.J.M., Vaudo A., Vejsnaes F., Wilde J., Williams G. R. and Zheng H-Q. 2013. Miscellaneous standard methods for *Apis mellifera* research. Journal of Apicultural Research 52(4): 1-53.
12. Jones G.D, and Bryant V.M. 1996. Melissopalynology. P. 933–938. In: J. Jansonius, and McGregor D.C., (eds.) Palynology, principles and applications. Salt Lake City, UT: AASP Foundation.
13. Keller I., Peter F., and Imdorf A. 2005. Pollen nutrition and colony development in honey bees: part I Bee World

86: 3–10.
14. Kerkvliet J.D., Shrestha M., Tuladhar K. and Manandhar H. 1995. Microscopic detection of adulteration of honey with cane sugar and cane sugar products. Apidologie 26: 131–139.
15. Kaškonienė V., Venskutonis R., and Čeksteryte V. 2010. Carbohydrate composition and electrical conductivity of different origin honeys from Lithuania. Food Science and Technology 43(5):801-807.
16. Louveaux J., Maurizio A., and Vorwohl G. 1978. Methods of Melissopalynology. Bee World 59:139–157.
17. Memariani F. 1997. Pollen study of some honey samples in Khorasan province. Journal of Research and Construction 49: 79-83.
18. Manafi H. 1991. Polynological study of Azerbaijani honeys in samples prepared from Khoy, Osko and Kalibar regions. Journal of Research and Construction 22(B 73): 180-182.
19. Özler H .2015. Melissopalynological analysis of honey samples belonging to different districts of Sinop, Turkey. Mellifera 15(1): 1-11.
20. Persano O.L., and Piro R. 2004. Main European unifloral honeys: descriptive sheets. Apidologie 35(1): S38–S81.
21. Piana M.L., Persano O. L., Bentabol A., Bruneau E., Bogdanov S., and Declerck Ch. G. 2004. Sensory analysis applied to honey: state of the art. Apidologie 35: S26–S37.
22. Ponnuchamy R., Bonhomme V., Prasad S., Das L., Patel P., Gaucherel C. D., Pragasam A., and Anupama K. 2015. Honey Pollen: Using melissopalynology to understand foraging preferences of bees in tropical south India. PlOS One 9(7): 1-12.
23. Pirani J.R., and Cortopassi-Laurino M. 1993. Flowers and bees of São Paulo. São Paulo, SP, Brazil. 192 pp.
24. Razzaghi kaamroudi M., Saneie Shariat Panahi M., Nazarian H., and Ghalichnia, H. 2001. Identification of pollens in honey of Nour region in Mazandaran. Journal of Research and Construction 72: 74-83.
25. Russmann, H. 1998. Yeasts and glycerin in flower honey Evidence of fermentation or stopped. Lebensmittelchemie 52: 116–117. (In German)
26. Sabugosa-Madeira B., Ribeiro H., Cunha M., and Abreu I. 2008. Anemophilous and entomophilous pollen flowers of Castanea sativa in the Northeast of Portugal. Acta Horticulturae 784: 133–136.
27. Saneie Shariat Panahi M., and Saeed Abadi H. 1999. Honey-producing plants in Karaj region by palinologicaal method. Journal of the Faculty of Agriculture, University of Tehran, No. 2 and 3:18-24. (In Persian with English abstract)
28. Scofield H. N. and Mattila H.R. 2015. Honey bee workers that are pollen stressed as larvae become poor foragers and waggle dancers as adults. PLOS One 10(4): 1-19. DOI:10.1371/journal.pone.0121731.
29. Song X-Y., Yao Y-F., and Yang W-D. 2012. Pollen analysis of natural honeys from the central region of Shanxi, north China. PLoS One 7(11): e49545 1-11.
30. Stephens D.W., and Krebs J.R.1986. Foraging Theory. Princeton university press, Princeton. 247 pp.
32. Vergeron P. 1964. Statistical interpretation of the results of pollen analysis of honey. A Les Annales de l’Abeille 7(4): 349-364. (In French)
32. Von der Ohe W., Oddo L., Piana M., Morlot M., and Martin P. 2004. Harmonized methods of melissopalynology. Springer Verlag. Apidologie 35 (Suppl. 1): S18-S25.

Journal of Plant Protection
Vol. 35, No. 1, Spring 2021, P. 57-67

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۱، بهار ۱۴۰۰، ص. ۶۷-۵۷

Palynological Analysis of Honey Produced by *Apis mellifera* L. in Semnan-Iran

M. Niknam[1]- H. Sadeghi-Namaghi[2]*- H. Nazarian [3]

Received: 15-11-2020
Accepted: 02-03-2021

Introduction: Increasing beekeeping activities, it is important to identify the main sources of pollen in a region and their value for bee colonies and pollen production. The latter may have a significant impact on the morphology, behavior, and physiology of all individuals and on the quality of pollination services as well. Therefore, pollen has a great impact on colony health. Several researches have shown that pollen quality varies in terms of the type and quality of amino acids and the amount of total protein, depending on the origin of the flower. For this reason, the palynological diversity of pollen is a good measure of the quality of bees' lives. Pollen and nectar of plants used by bees in some regions of Iran have been investigated in the literature However, there are no data about the status of bee pollen sources in Semnan province. The present work aims to consider changes in the plant composition and pollen concentrations of honey samples during the investigation period. Especially, to determine honey bee forager’s pollen preferences in the study area, and to prepare a guide of a year round floral calendar for beekeepers and farmers for better understanding the blooming periods of bee pollinated plants.

Material and Methods: This research was conducted in 2017 in different regions of Semnan province. Semnan province with an area of 97491 square kilometers occupies 5.8 percent of the country's area. This province located between 34º, 13´ to 37 º, 20´ N latitude and from 51 º, 51´to 57 º, 3´ E longitude. In this study, for quantitative analysis of pollen grains, the amount of one kilogram of honey was prepared from 25 beekeepers in Semnan province at the end of summer and the geographical coordinates of the hive locations were recorded using a GPS device. All samples were analysed using the standard pollen analysis a hemocytometer was used to count the number of pollens in a certain volume of solution. Pollen grains were counted using a light microscope with a magnification of 100. These steps were repeated ten times for each sample of honey. To identify pollen grains, one drop of the well-homogenised pollen grain suspension was applied to a microscope slide, covered with a 22 mm × 22 mm cover glass and sealed with nail varnish. For each sample, several microscopic slides were prepared and were observed using light and polarised light microscopy. Pollen grains were identified to species level where possible by comparison to the reference pollen collection prepared from hand-collected pollens from known flowering plants in the study area. The frequency of occurrence was calculated as the percentage of samples, in which one pollen type was observed. Honey samples were classified using the method of Liux et al. (16).

Results and Discussion: In this research, 505 types of pollen grains were identified in honey samples collected from the study areas, which belonged to 83 plant families. Among these grains, pollen grains of 474 plant species were identified in honey of Abrsaj, Abar, Shahkooh paeen, Bastam, Dibaj Damghan and Rameh Garmsar regions and 31 species of honey from other regions of the province and from the honey supplied by beekeepers migrated to Semnan province. Based on the comparison of the means between the number of pollen grains in standard samples, the highest number of pollen grains was recorded in Qatari and Folad mahalle regions (respectively with an average of 1174 000 and 169000).The lowest number of pollen grains was observed in Comercial sample and Abrsaj2 (with the mean of 17000 and 140000, respectively) (Figure 3). The results of comparing the means as well as the classification table of pollen grains showed that 72% of the studied areas (18 areas) placed in class 3 (100000 to 500000 grains in the standard sample), 16% (4 regions) in class 4 (500000 to 1000000 pollen grains), 8% (2 regions) in class 5 (above 1000000) and 4% (1 region) in class 1 (less than 20000), in terms of the number of pollen grains per 10 grams of honey. In this study, no sample was included in class 2. The results of identifying pollen grains and their abundance in honey samples showed that the most important plant species used by foraging bees were related to Asteraceae, Leguminosae, Lamiaceae, rosaceae, Apiaceae, and Brassicaceae, Liliaceae and Ranunculaceae families, respectively. The results also showed that the range and diversity of plants in the composition of the honey spectrum of each region are of

1 and 2- Ph.D. Student and Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: Sadeghin@um.ac.ir)
3- Associate Professor of Botany, Imam Khomeini Higher Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran
DOI: 10.22067/JPP.2021.67070.0

particular importance. The higher density of a plant species and the wider level of its distribution, the more dramatic use of bees. These results help to prove the complexity and heterogeneity of environmental and ecological phenomena in feeding and grazing bees' process.

Conclusion: The present study complements previous melissopalynological studies from other provinces of Iran and provides additional and new information on regional plant resources for pollen in honey. In this study all honey samples were obtained directly from local beekeepers and the melissopalynological analysis was completed with direct observations of the search behavior of worker bees. Therefore, we were able to determine the origin of the pollen in the honey using the location of the hive, the season and the available flower source. However, more studies are needed to fully understand the preferential behavior of grazing bees and the pollen of honey produced in the area.

Keywords: Bees, Honey, Melissopalynology, Pollen grains